Nº 6. **Etienne Wolff et Françoise Dubois.** — Sur la migration des cellules de régénération chez les Planaires. Avec 6 figures dans le texte.

On sait que la régénération des Planaires d'eau douce est effectuée par des cellules spéciales, appelées « Stammzellen » ou « cellules souches » en 1894 par Keller. Nous proposons de les appeler « néoblastes », terme fréquemment employé pour désigner les cellules de régénération des Annélides. Ces cellules sont actuellement considérées par la plupart des auteurs comme distinctes des cellules du parenchyme par leur structure et leurs propriétés; ce sont de véritables cellules embryonnaires qui ont conservé des potentialités très étendues; elles participent à la reconstitution de n'importe quelle partie de l'organisme.

Peuvent-elles à elles seules constituer un blastème de régénération et reformer la partie manquante ? Sont-elles capables d'effectuer des migrations de grande amplitude, ou la régénération ne fait-elle appel qu'aux néoblastes les plus voisins de la région mutilée ? C'est à ces deux problèmes que nos recherches apportent une contribution.

Nous expérimentons sur la Planaire *Euplanaria lugubris* Hesse, à l'aide d'une technique d'irradiation localisée utilisant les rayons X. Toutes les expériences sont faites à la température constante de 15°.

I. *Destruction élective des cellules de régénération par les rayons X.*

Nous vérifions d'abord que les Planaires irradiées *in toto* avec une dose suffisante de rayons X (2.500 à 3.500 r.) sont incapables de régénérer, en quelque point de l'organisme que ce soit. Ce résultat vérifie les observations antérieures de Curtis et Hickman (1926) et Chevtchenko (1938). Les Planaires irradiées survivent quelque temps à l'irradiation; elles meurent infailliblement au bout de 4 à 6 semaines. Les rayons X détruisent donc électivement les cellules de régénération.

2. *Démonstration de la migration des cellules de régénération.*

Si l'on irradie avec la même dose une région précise de la Planaire, on détruit les cellules de régénération de cette région. Si la régénération a lieu quand même, c'est qu'elle fait appel à des néoblastes de la partie non irradiée. Nous irradions par exemple la région située en avant de la base du pharynx, limitée par une ligne transversale (fig. 1). Si nous coupons la tête de la Planaire en

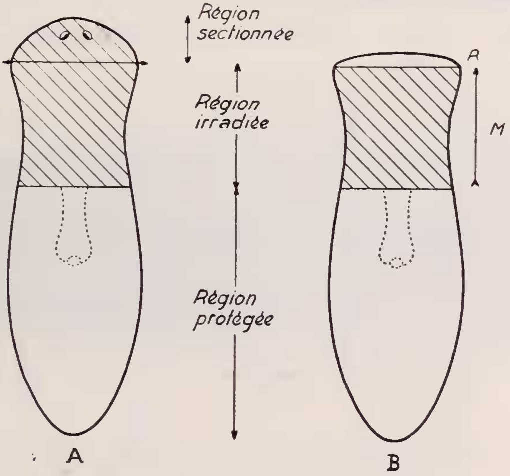

Fig. 1.

Irradiation de la région antérieure au pharynx.

A. Sujet au moment de la section.
B. Régénération un mois après.
R. Jeune régénérat.
M. Sens de la migration.

N.B. — Toute la région hachurée sur la fig. I A est soumise à l'irradiation

arrière des yeux le lendemain de l'irradiation, nous constatons que la régénération se produit. Mais elle est différée par rapport aux témoins. Chez ceux-ci, la régénération commence immédiatement; elle est complète en 8 jours. Chez les opérés, la régénération commence au bout de 28 à 30 jours, elle est achevée 8 jours plus tard. Cette différence correspond au temps mis par les néoblastes pour effectuer leur migration à travers la région irradiée.

La durée de la migration est fonction de l'espace à parcourir. Nous divisons arbitrairement les Planaires en 10 unités de longueur. Nous irradions des territoires de longueur variant entre 2 et

8 unités; la région de la tête que nous sectionnons correspond à 1 unité. La migration aura donc une amplitude de 1 à 7 unités. Elle s'effectue en 10 jours pour une unité, en 102 jours pour 7 unités. Elle est en gros proportionnelle à la distance à parcourir, mais plus lente, comme la régénération normale elle-même, dans les régions postérieures que dans les territoires antérieurs.

L'existence et la possibilité de migrations très étendues des cellules de régénération sont donc démontrées (E. WOLFF et F. DUBOIS, 1947 *a* et *b*).

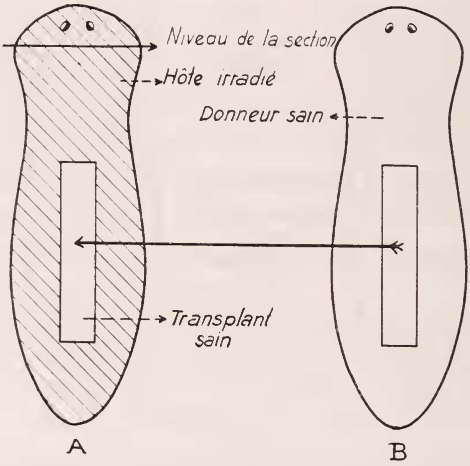

FIG. 2.
Schéma de l'expérience de transplantation d'un morceau sain d'un donneur B dans un hôte irradié A.

3. *Nouvelle démonstration de la migration des cellules de régénération.*

Des expériences qu'effectue actuellement l'un de nous (F. DUBOIS, 1948 *a*) mettent en évidence de manière saisissante la migration des néoblastes. Des Planaires sont irradiées *in toto*, de manière à détruire complètement les cellules de régénération. Un fragment rectangulaire est découpé à l'emporte-pièce au milieu du corps d'une Planaire (fig. 2 A) et remplacé par un transplant de même forme et de mêmes dimensions, issu d'une Planaire non opérée (fig. 2 B). Quand le greffon est soudé à l'hôte, on coupe la tête de celui-ci. Après un temps qui varie suivant la distance du greffon à la surface de section, un blastème de régénération se

constitue au niveau de la section et une tête normale est régénérée. Les cellules de régénération ne peuvent venir que du greffon. Les Planaires ainsi traitées survivent, alors que les témoins meurent infailliblement dans un espace de 3 à 4 semaines.

L'expérience est particulièrement démonstrative quand le donneur et l'hôte ont une pigmentation très différente. La figure 3 représente un greffon très sombre dans un hôte clair. Le blastème de régénération et la tête qui en dérive prennent d'emblée la pigmentation foncée de l'hôte, ce qui matérialise la provenance et la migration des néoblastes. On sait que les jeunes régénérats sont

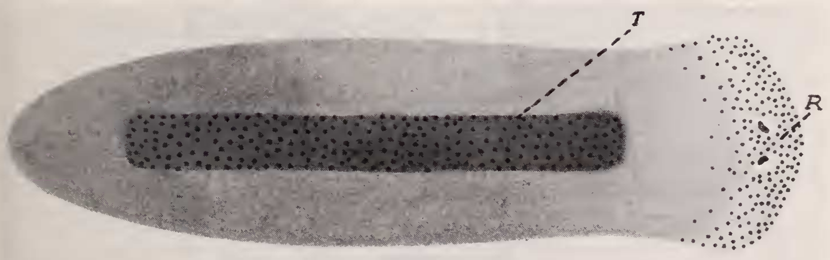

Fig. 3.
Résultat de l'expérience de greffe; en R, régénérat présentant la même teinte de fond que le transplant T.

clairs et transparents au début. On observait cependant dès les premiers jours une différence de pigmentation entre l'hôte et le régénérat, et cette différence s'accentue de jour en jour, de telle sorte que la tête et le transplant ont la même teinte de fond.

4. *Facteurs qui provoquent la migration des cellules de régénération. La notion d'appel de migration.*

La migration des cellules de régénération est-elle spontanée ou n'est-elle déclenchée que par certains facteurs ? Pour résoudre ce problème, nous irradions la région antérieure (longueur: 4 unités) de Planaires que nous divisons en deux lots *a* et *b*.

a) On sectionne les têtes immédiatement après l'irradiation. La régénération est effective au bout de 28 à 30 jours, conformément aux résultats du paragraphe 2.

b) Les têtes sont sectionnées après un délai de t jours ($t = 15$ à 30 jours). On constate que la régénération ne se produit qu'après $t + 30$ jours, ce qui prouve que la migration ne commence qu'après la mutilation et qu'elle est déclenchée par elle.

Nous nous sommes demandé si une amputation, telle que la section de la tête, est nécessaire au déclenchement de la migration. Nous avons pratiqué, au niveau de la tranche postérieure de la tête, une incision franche, dont la réparation ne fait pas intervenir

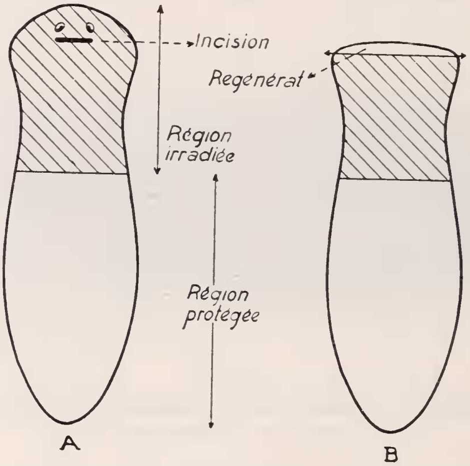

Fig. 4.
Migration déclenchée par une incision franche.
A. Sujet après l'incision.
B. Sujet régénérant dès la section.

normalement de régénération, mais une simple cicatrisation. Cette incision peut être unique ou répétée. Les cellules de régénération doivent effectuer une migration de 3 unités pour arriver à ce niveau (fig. 4). Si celle-ci se produit, les cellules de régénération seront en place au bout de 30 jours. Nous sectionnons la tête à ce niveau, 30 jours après la première incision. La régénération commence immédiatement, ce qui prouve que l'incision a suffi à provoquer l'appel des néoblastes.

Nous sommes amenés à penser qu'il existe un système de corrélations entre les différentes régions d'une Planaire, en ce qui concerne le déclenchement de la migration des néoblastes. Dans nos expé-

riences, nous voyons un appel se transmettre depuis la surface de section jusqu'à la région saine, à travers toute la région irradiée. Ces corrélations sont-elles humorales ou nerveuses ? Le problème est à l'étude mais n'est pas encore résolu (E. Wolff et F. Dubois, 1947 *c*).

5. *La migration dans la régénération normale.*

L'appel de la migration se transmet-il dans les conditions normales à toutes les parties d'une Planaire ? Les migrations de

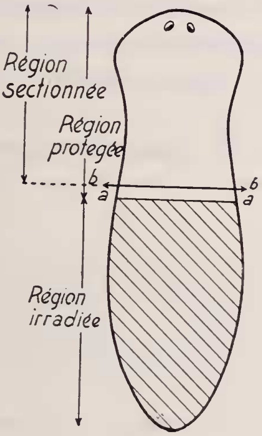

Fig. 5.
Régénération immédiate à partir d'une bande étroite de tissus sains.

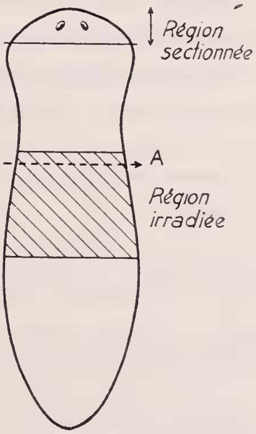

Fig. 6.
Irradiation d'une bande médiane. En A, région sectionnée trois semaines après l'irradiation et l'amputation de la tête. La régénération commence immédiatement.

grande amplitude ne se produisent-elles que chez les Planaires irradiées partiellement ? On peut objecter aux expériences qui viennent d'être relatées qu'elles ne se placent pas dans les conditions normales de la régénération. Le fait que la régénération des Planaires irradiées partiellement demande un délai plus long que la régénération des témoins prouve que, dans les conditions normales, le blastème ne comporte pas, du moins au début, de cellules provenant de territoires lointains. On sait que de très petits fragments de Planaires peuvent régénérer une tête. D'autre part une Planaire

entière peut régénérer une tète à partir d'une bande étroite de tissus. C'est ce que montre l'expérience suivante.

Toute la région postérieure d'une Planaire, en arrière d'une ligne *aa*, est irradiée. On sectionne la région antérieure juste en avant de la ligne *aa*, en *bb* (fig. 5). La mince bande de tissus sains (1 à 2 mm.) comprise entre *aa* et *bb* régénère immédiatement une tête, même après plusieurs amputations. On pourrait penser que l'appel ne s'exerce pas sur une grande étendue, si le régénérat dispose de néoblastes dans son entourage immédiat, comme c'est le cas dans l'expérience qui vient d'être relatée.

La section de la tête ou toute autre mutilation mobilise-t-elle toutefois les néoblastes dans des régions éloignées du corps ? L'expérience suivante, réalisée récemment par l'un de nous (F. DUBOIS, 1948 *b*), répond à la question.

Des sujets sont irradiés, au niveau du pharynx, suivant une bande transversale large de deux ou trois unités. Ils sont divisés en deux lots.

a) Dans un premier lot, les sujets sont laissés tels quels. Au bout de 12 à 15 jours, la zone irradiée se nécrose profondément et se désagrège. Certains sujets meurent, les autres s'autotomisent et, après élimination de la zone nécrosée, ils peuvent régénérer.

b) Dans un deuxième lot, les sujets sont amputés de leur tête dès l'irradiation. La tête, bien entendu, régénère immédiatement. On constate alors qu'il n'apparaît pas de nécroses graves dans la zone irradiée; ou s'il se forme de petits foyers de nécroses, ceux-ci se réparent et s'effacent très rapidement. La zone irradiée reste saine. Si l'on sectionne les sujets dans la région antérieure de la bande irradiée (fig. 6, en A), trois semaines après l'irradiation, *la régénération commence immédiatement* et reproduit une tête. Le pouvoir de régénération de cette zone irradiée, de même que sa capacité de réparer les lésions dues à l'irradiation, prouve que la migration des cellules de régénération s'est produite de la région postérieure du corps vers la bande irradiée, et qu'elle a été déclenchée par l'amputation de la tête dans la région saine.

Nous sommes donc en droit de conclure que, dans les conditions normales, l'appel de migration s'étend de la région mutilée à toutes les parties du corps.

6. *La réparation des lésions et le rôle des néoblastes.*

Dans toutes les expériences d'irradiation effectuées jusqu'à ce jour, on constate que les cellules migratrices ne participent pas seulement à la régénération des parties mutilées, elles réparent aussi les lésions de moindre importance qu'elles rencontrent sur leur trajet.

La partie antérieure irradiée d'une Planaire dégénère infailliblement au bout de 4 à 6 semaines, comme un individu irradié totalement, si l'on ne provoque pas l'appel des cellules migratrices. Au contraire, si l'on provoque cet appel dans la région céphalique, soit par une amputation, soit par une simple incision, toute la partie irradiée répare ses lésions et survit. Les foyers de nécrose provoqués par l'irradiation et qui se manifestent à partir du 15e jour disparaissent progressivement. Ils sont comme balayés par le flux des cellules migratrices. La réparation se fait d'arrière en avant; la régression des foyers de nécrose jalonne en quelque sorte le trajet parcouru par les néoblastes sains. Elle matérialise le front atteint par eux. Celui-ci correspond au niveau que l'on peut déduire des expériences sur la migration.

L'étude histologique confirme ces observations. On voit les néoblastes sains repeupler progressivement, d'arrière en avant, la région irradiée de la Planaire. Par ailleurs, on ne voit aucune autre cellule en mitose normale en avant de la région atteinte par les néoblastes. Il est probable que l'irradiation n'empêche pas seulement les divisions des néoblastes, mais qu'elle inhibe toute mitose dans la région affectée. C'est ce qui explique qu'un individu ou un tronçon de Planaire irradié est irrémédiablement voué à la mort, s'il n'est pas colonisé par des néoblastes sains.

On peut envisager que les cellules de régénération jouent un double rôle dans la région irradiée des Planaires.

1° Elles édifient à elles seules le blastème de régénération, sans la collaboration d'aucun autre tissu de l'organisme.

2° Elles seules peuvent réparer les lésions locales des différents tissus de la région irradiée.

Ainsi les néoblastes migrateurs paraissent être les seules cellules capables de se diviser, de régénérer et d'effectuer les simples remplacements tissulaires indispensables à la survie de la région irradiée. Elles manifestent ainsi leurs multiples potentialités, plus

précisement leur totipotence, à l'égal de très jeunes cellules embryonnaires, dont elles conservent les propriétés.

On peut se demander si ces éléments ne jouent pas un rôle analogue non seulement dans la régénération habituelle, mais encore dans la vie normale des Planaires. Certains auteurs, en particulier Curtis (1902), Lang (1912-13) et Bartsch (1923) ont insisté sur le fait qu'on ne voit jamais de mitoses dans l'épiderme; d'après Bartsch, le remplacement de l'épiderme serait consécutif à l'insinuation de « cellules souches » entre les cellules épithéliales. Ces cellules de régénération seraient seules capables de se diviser, elles perdraient cette propriété après différenciation. Nous pensons apporter un nouvel argument en faveur de cette conception.

(Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale de la Faculté des Sciences de Strasbourg et du C.N.R.S.)

BIBLIOGRAPHIE

1894. Keller, J. *Die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Süsswasser-Turbellarien*. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch. 28, p. 370.

1902. Curtis, W. C. *The Life History, the Normal Fission, the Reproductive Organs of Planaria maculata Troc.* Boston Soc. Nat. Hist., 30, p. 515.

1912. Lang, P. *Über Regeneration bei Planarien*. Archiv f. mikrosk. Anat., 79, p. 361.

1923. Bartsch, O. *Die Histogenese der Planarienregenerate*. Archiv f. mikrosk. Anat., 99, p. 187.

1926. Curtis, W. C. et Hickman, J. *Effects of X-rays and radium upon regeneration in planarians*. Anat. Record, 34, p. 145.

1939. Chevtchenko, N. N. *Migration of regeneration material in planarians*. Bull. Biol. et Méd. expér. U.R.S.S. (en russe, résumé en anglais), 6, p. 276.

1947. Wolff, E. et Dubois, F. a) *La migration des cellules de régénération et les facteurs qui la provoquent chez les Planaires*. C. R. Ac. Sc., 224, p. 1387.

1947. —— b) *Sur une méthode d'irradiation localisée permettant de mettre en évidence la migration des cellules de régénération chez les Planaires*. C. R. Soc. Biol., 141, p. 903.

1947. —— c) *Sur les facteurs qui déclenchent la migration des cellules de régénération chez les Planaires*. C. R. Soc. Biol., 141, p. 906.

1948. DUBOIS, F. a) *Démonstration de la migration des cellules de régénération des Planaires par la méthode des greffes et des irradiations combinées.* C. R. Ac. Sc., 226, p. 1316.

1948. —— b) *Sur les conditions de la migration des cellules de régénération chez les Planaires d'eau douce.* C. R. Soc. Biol., séance du 13 mars.

1948. —— c) *Sur une nouvelle méthode permettant de mettre en évidence la migration des cellules de régénération chez les Planaires.* C. R. Soc. Biol., séance du 17 avril.

N° 7. **M. Lüscher,** Paris-Basel. — Gewebekultur „in vivo" bei *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). Mit 4 Textabbildungen.

Laboratoire d'Evolution des Etres Organisés, Université de Paris.

Zur Untersuchung der Wirkung von Stoffen auf die einzelne Zelle eines Organismus greift man gewöhnlich zur Methode der Gewebekultur *in vitro*. Bei dieser Methode arbeitet man mit Geweben und Einzelzellen, die sich in einem vollkommen künstlichen Milieu befinden. Möglicherweise reagieren nun aber die Einzelzellen, die sich im natürlichen Milieu befinden, oder die direkt mit dem Organismus in Verbindung stehen, anders auf die verabreichten Stoffe. Die an isolierten Zellen der Gewebekultur beobachteten Resultate lassen sich deshalb nicht ohne Weiteres auf die Zellen des Organismus übertragen. Meistens ist es nun aber gerade unser Endziel, die Wirkung der Stoffe auf die im Verband mit dem Organismus stehende Zelle zu erfahren.

Man hat deshalb Methoden ausgearbeitet, die ein direktes Beobachten der Einzelzellen eines Organismus gestatten. Dies ist ohne Weiteres möglich bei durchsichtigen Wassertieren. So können beispielsweise die Epidermis- und Bindegewebszellen des Schwanzes der jungen, durchsichtigen Larve des Krallenfroschs *(Xenopus laevis)* direkt beobachtet werden. Leider verhindert aber die relative Dicke des Schwanzes die Anwendung stärkster Vergrösserungen.

Bei den undurchsichtigen Landtieren muss zur Beobachtung einzelner Zellen die Haut durch ein durchsichtiges Material, meist